镉胁迫下 MAPKs 调控下游效应蛋白初探

常娜，张蕾，黄金海，张丽琳*

天津大学生命科学学院，天津市卫津路 92 号 300072；

通讯作者 E-mail：lyliazhang@163.com

镉作为非必需金属对人体健康造成很大威胁，有研究表明镉的积累会导致 β 淀粉样蛋白的增加[1]以及路易氏小体的形成[2]，从而引起阿尔兹海默症和帕金森症等神经退行性疾病的发生。从致病机理分析，镉通过破坏细胞内的 Ca^{2+}，NO，ROS，MAP kinase 等信号通路的稳态从而导致细胞死亡[3]。目前针对 MAPK 的研究主要集中在 MAPKs 本身及其上游组分在镉胁迫下的应答方面，MAPKs 的激活对下游效应蛋白的调控机制及效应蛋白种类的研究较少。

实验室前期工作发现，酵母细胞中的有丝分裂原蛋白激酶信号通路的三个核心组份（*HOG1*, *SLT2* 和 *KSS1*）基因缺失后对镉胁迫表现出了敏感性[4]，并对其中的两条途径——细胞壁完整性途径(Cell Wall Integrity, CWI)和渗透压甘油途径(High Osmolarity Glycerol, HOG)进行深入研究。本次研究以酿酒酵母野生型菌株 BY4741 及其背景下的 *HOG1* 和 *SLT2* 基因缺失株为研究对象，利用 HiSeq2500 检测 50μM $CdCl_2$ 胁迫下各基因表达量，选用 DESeq 差异表达分析软件进行样品组间的差异表达分析，并从中筛选出参与镉胁迫应答并与 Hog1p 和 Slt2p 调控相关的基因进行功能分析。随机挑选 10 个差异表达基因进行 RT-qPCR 对 RNA-seq 结果进行验证。

根据 RNA-Seq 数据，我们将差异表达基因筛选标准设定为 FC>1.5，FDR<0.05，利用 GO、COG 和 KEGG 数据库对差异表达基因进行功能注释分析。结果表明，镉胁迫下 *hog1Δ* 与 BY4741 相比，共有差异表达基因 103 个，GO 注释功能主要集中在抗氧化、分子转运、新陈代谢、信号转导和应激应答等方面，与 KEGG 分析结果揭示出的两个主要响应途径——MAPK 转导途径以及氨基酸合成代谢途径等结果相符，COG 分析结果则进一步证明差异表达基因功能集中在新陈代谢及转运等过程；通过对差异表达基因的韦恩图分析得到 26 个受 Hog1p 正调控的基因，可能参与了 Cd^{2+}的运输；而 TEC1、SFG1 等 5 个基因被 Hog1p 负调控。镉胁迫下 *slt2Δ* 与 BY4741 菌株相比后差异表达基因有 9 个，三个数据库分析均证明功能集中在细胞周期调控及蛋白的合成加工方面。目前从两组缺失株调控的基因数据库中挑选出 8 个与离子运输、抗氧化胁迫功能相关的基因，包括 *NCW2*、*PRM5*、*YCT1* 等，分别构建了双基因缺失菌株并对其进行倍比稀释表型分析，已证明 *hog1yct1* 可以部分恢复 *HOG1* 缺失导致的镉敏感型表型，从表型结果推测 *YCT1* 位于 MAPKs-Hog1p 下游，相应镉原子吸收实验也证明该结论。*YCT1* 为半胱氨酸的高亲和性转运蛋白[5]，尚无与 Hog1p 相关联的证据，二者互作的遗传学和理化试验的验证工作正在进行中。

参考文献

[1] Chin-Chan M, Navarro-Yepes J, Quintanilla-Vega B. Environmental pollutants as risk factors for neurodegenerative disorders: Alzheimer and Parkinson diseases. Frontiers in Cellular Neuroscince, 2015, 9:124.

[2] Jang LF, Yao TM, Zhu ZL, Wang C, Ji LN. Impacts of Cd(II) on the conformation and self-aggregation of Alzheimer's tau fragment corresponding to the third repeatof microtubule-binding domain. Biochim Biophys Acta, 2007, 1774:1414–1421.
[3] F. Thevenod, W.K. Lee, Cadmium and cellular signaling cascades: interactions between cell death and survival pathways, Arch. Toxicol. 87 (2013)1743-1786.
[4] Jiang LH, Cao CL, Zhang LL, et al. Cadmium-induced activation of high osmolarity glycerol pathway through its Sln1 branch is dependent on the MAP kinase kinase kinase Ssk2, but not its paralog Ssk22, in budding yeast. FEMS YEAST RESEARCH. 14(2014):1263-1272.
[5] Jaspreet Kaur, Anand K. Bachhawa . Yct1p, a Novel, High-Affinity, Cysteine-Specific Transporter From the Yeast Saccharomyces cerevisiae Genetics. 176(2007): 877–890.

作者简况：
常娜，女，1993 年 04 月，学士学位，现于天津大学生命科学学院硕士研究生在读。
联系电话：13820273325
邮箱：13820273325@163.com